

Isolasi dan seleksi bakteri probiotik dari lingkungan (Widanarni)

ISOLASI DAN SELEKSI BAKTERI PROBIOTIK DARI LINGKUNGAN TAMBAK DAN HATCHERI UNTUK PENGENDALIAN PENYAKIT VIBRIOSIS PADA LARVA UDANG WINDU, *Penaeus monodon*

Widanarni, Fahmi Rajab, Sukenda, dan Mia Setiawati

Departemen Budidaya Perairan-FPIK, Institut Pertanian Bogor
Jl. Lingkar Akademik, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680
E-mail: widanarni@yahoo.com

(Naskah diterima: 15 Oktober 2008; Disetujui publikasi: 26 April 2010)

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh bakteri probiotik yang mampu menghambat pertumbuhan *Vibrio harveyi* untuk pengendalian penyakit vibriosis pada larva udang windu. Jumlah isolat bakteri yang berhasil diisolasi dari 34 sumber yang berbeda di lingkungan tambak dan hatcheri ada 118 isolat. Dari total isolat tersebut setelah diseleksi secara *in vitro* menggunakan metode Kirby-Bauer dipilih 3 isolat bakteri kandidat probiotik yang paling potensial dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* MR5339, yaitu isolat 9a berasal dari *Cyclotella* dengan zona hambat 12,8 mm; isolat Ua berasal dari saluran pencernaan udang vaname dengan zona hambat 14,5 mm; dan isolat P₁₇B₆ berasal dari air pemeliharaan kerapu bebek dengan zona hambat 15,0 mm. Hasil uji patogenisitas dengan konsentrasi bakteri 10⁶ CFU/mL menunjukkan bahwa ketiga isolat tersebut tidak bersifat patogen pada larva udang windu. Hasil uji tantang pada larva udang juga menunjukkan bahwa ketiga isolat tersebut mampu meningkatkan sintasan larva udang windu. Nilai sintasan larva pada perlakuan yang selain diinfeksi dengan *V. harveyi* MR5339 juga ditambah probiotik Ua, 9a, dan P₁₇B₆ masing-masing adalah 88,3%; 88,3%; dan 76,7% sedangkan pada perlakuan yang hanya diinfeksi dengan *V. harveyi* MR5339 tanpa probiotik nilai sintasannya hanya mencapai 65,0%. Populasi *V. harveyi* pada perlakuan dengan penambahan bakteri probiotik tampak lebih rendah dibanding perlakuan tanpa probiotik, hal ini menunjukkan kemungkinan adanya kompetisi antara bakteri *V. harveyi* dengan bakteri probiotik.

KATA KUNCI: bakteri probiotik, vibriosis, udang windu, hatcheri, tambak

ABSTRACT: *Isolation and selection of probiotic bacteria from pond and hatchery to control vibriosis on tiger shrimp larvae, Penaeus monodon. By: Widanarni, Fahmi Rajab, Sukenda, and Mia Setiawati*

This research was performed to obtain probiotic bacteria that were able to inhibit the growth of Vibrio harveyi to control vibriosis on tiger shrimp larvae. Number of isolates from 34 different sources in different shrimp ponds and hatcheries were 118 isolates. Of the total isolates, after in vitro selection using Kirby-Bauer method, there were three bacteria isolates found to be the most potential bacteria candidate for inhibiting the growth of V. harveyi MR 5339 bacteria, they were 9a isolate from Cyclotella origin with inhibition zone of 12.8 mm, U_a isolate from white shrimp intestinal tract with inhibition zone of 14.5 mm, and P₁₇B₆ isolate from polka dot grouper rearing water with inhibition zone of 15.0 mm. Pathogenicity test result at concentration of 10⁶ CFU/mL bacteria showed that the three isolates were not pathogenic to tiger shrimp larva. Challenge test results on shrimp larva also showed that the three isolates could increase survival rate of tiger shrimp larva. Survival rate values in

infection treatment using *V. harveyi* MR5339 with Ua, 9a, and P_{17B}₆ bacteria were 88.3%, 88.3%, and 76.7%, respectively; whereas infection treatment merely using *V. harveyi* MR5339 without the probiotic gave 65.0% survival rate. *V. harveyi* populations in treatment by addition of the probiotic bacteria were lower than that of treatment without probiotic bacteria. This fact suggests that there is a possible competition between *V. harveyi* and the tested probiotic bacteria.

KEYWORDS: *probiotic bacteria, vibriosis, Penaeus monodon, pond, hatchery*

PENDAHULUAN

Serangan penyakit bakterial pada tingkat pembenihan yang paling serius dan sering menyebabkan terjadinya kematian massal pada larva udang windu adalah serangan bakteri berpendar yang diidentifikasi sebagai *Vibrio harveyi* (Lavilla-Pitogo *et al.*, 1990; Karunasagar *et al.*, 1994; Ruangpan *et al.*, 1998). Bakteri ini pada umumnya menyerang larva udang pada stadia zoea, mysis dan awal pascalarva (Lavilla-Pitogo *et al.*, 1990) sehingga merupakan kendala dalam penyediaan benih udang yang sehat dalam jumlah besar yang diperlukan untuk produksi udang.

Usaha untuk menanggulangi penyakit tersebut telah dilakukan dengan menggunakan berbagai jenis antibiotik. Namun penggunaan antibiotik secara terus-menerus dengan dosis sub-optimal telah mengakibatkan *V. harveyi* menjadi resisten (Karunasagar *et al.*, 1994; Tjahjadi *et al.*, 1994; Teo *et al.*, 2000). Penggunaan vaksin juga sulit diterapkan karena galur *V. harveyi* yang menyerang larva udang sangat bervariasi (Suwanto *et al.*, 1998). Selain itu, degradasi vaksin yang diserap merupakan masalah lain di samping beragamnya galur *V. harveyi* patogen (Alabi *et al.*, 1999).

Dengan adanya kelemahan-kelemahan dari berbagai upaya yang telah dilakukan, penggunaan bakteri probiotik sebagai agen biokontrol pada pembenihan udang menawarkan alternatif pemecahan untuk menanggulangi permasalahan tersebut. Dasar pendekatan ini adalah dengan menggunakan aktivitas mikroorganisme yang dapat menekan atau menghambat pertumbuhan *V. harveyi* tanpa menimbulkan dampak buruk terhadap sistem keseimbangan ekologis mikrob. Cara ini telah terbukti berhasil dan banyak digunakan pada usaha hewan ternak (Fuller, 1992; Ohhira *et al.*, 1996), dan akhir-akhir ini mulai diteliti serta diaplikasikan pada sistem budidaya perairan, misalnya pada budidaya ikan (Skjermo & Vadstein 1999; Gram *et al.*,

1999), kekerangan (Douiilet & Langdon 1994; Riquelme *et al.*, 1997), dan udang (Tjahyadi *et al.*, 1994; Rengpipat *et al.*, 1998a, 1998b, 2000; Gomez-Gil *et al.*, 2000).

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat lokal bakteri probiotik yang secara *in vitro* maupun *in vivo* mampu menghambat pertumbuhan *V. harveyi* patogen serta efektif diaplikasikan dalam penanggulangan penyakit vibriosis di Indonesia.

METODE PENELITIAN

Isolasi Bakteri Kandidat Probiotik

Bakteri kandidat probiotik diisolasi dari berbagai lingkungan tambak dan hatchery yaitu di Balai Pengembangan Benih Ikan Laut Payau dan Udang (BPBILAPU), Pangandaran, Jawa Barat serta hatchery udang PT Biru Laut Khatulistiwa dan tambak udang intensif di Lampung. Sampel yang diambil meliputi: berbagai stadia larva udang dan media pemeliharaannya serta pakan alami larva udang berupa kultur alga dan artemia. Masing-masing sampel disebar pada media *seawatercomplete* (SWC)-agar (5 g bactopectone, 1 g yeast extract, 3 mL glycerol, 15 g agar, 750 mL air laut, dan 250 mL aquades) dan selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang 28°C-31°C selama 24 jam. Koloni yang terpisah kemudian dipilih secara acak untuk mendapatkan isolat murni untuk dipelajari lebih lanjut.

V. harveyi yang digunakan dalam penelitian ini adalah *V. harveyi* MR5339, yang diisolasi dari udang sakit dan merupakan koleksi dari Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau, Maros, Sulawesi Selatan dan telah diuji bersifat patogen pada larva udang windu.

Pengujian In Vitro Bakteri Kandidat Probiotik

Semua isolat murni yang diperoleh diuji daya hambatnya terhadap *V. harveyi* MR5339 secara *in vitro* dengan metode Kirby-Bauer, yakni dengan mengamati diameter zona

hambat pada media SWC-agar. Bakteri kandidat probiotik dan *V. harveyi* MR5339 masing-masing sebanyak 1 ose disuspensikan ke dalam 500 µL larutan fisiologis (NaCl 0,85%) steril di dalam tabung *eppendorf*. Selanjutnya sebanyak 50 µL suspensi *V. harveyi* MR5339 disebar pada media SWC-agar dan dibiarkan sampai agak kering. *Paper disk* steril merk Whatman nomor 42 dengan diameter 5 mm diletakkan di atas media SWC-agar yang telah diberi *V. harveyi* MR5339 dan kemudian sebanyak 5 µL suspensi bakteri kandidat probiotik diteteskan di atas *paper disk*. Uji ini dilakukan dengan 4 ulangan dan 1 kontrol (larutan fisiologis). Setelah inkubasi pada suhu ruang selama 24 jam, zona hambat diukur dan nilainya dirata-ratakan.

Patogenisitas Bakteri Kandidat Probiotik

Sebelum dilakukan uji tantang dengan *V. harveyi* pada larva udang, tiga isolat yang paling potensial berdasarkan uji *in vitro* diuji patogenisitasnya pada larva udang. Pengujian dilakukan dengan menambahkan suspensi isolat bakteri kandidat probiotik dengan konsentrasi 10^6 CFU/mL pada media pemeliharaan larva udang. Pasca larva udang windu stadia PL₁ dipelihara dalam toples yang diisi air laut steril 2 liter dengan kepadatan 10 ekor/L dan diberi pakan *Artemia* 3-5 individu/mL dengan frekwensi 4 kali/hari. Ganti air dan penyiponan dilakukan setiap hari sebanyak 10% dari volume total wadah pemeliharaan. Pemeliharaan pasca larva udang dilakukan selama 5 hari dan larva yang mati dihitung setiap hari. Pada akhir percobaan dihitung sintasan larva dan dibandingkan dengan kontrol, yakni perlakuan tanpa penambahan isolat bakteri kandidat probiotik.

Uji Tantang Bakteri Kandidat Probiotik dengan *V. harveyi* MR5339 pada Larva Udang Windu

Tiga isolat bakteri kandidat probiotik yang paling potensial berdasarkan uji *in vitro* dan tidak bersifat patogen, diuji efektivitasnya dalam menghambat serangan *V. harveyi* pada larva udang. Isolat bakteri kandidat probiotik dengan konsentrasi 10^6 CFU/mL dimasukkan ke dalam wadah pemeliharaan udang sehari setelah larva udang dimasukkan. Pasca larva udang windu stadia PL₁ dipelihara dalam toples yang diisi air laut steril 2 liter dengan kepadatan 10 ekor/L. Setelah kokultivasi dengan pasca

larva udang selama 6 jam, *V. harveyi* MR5339 dimasukkan dengan konsentrasi 10^6 CFU/mL (LD_{50}). Percobaan dilakukan dengan tiga ulangan termasuk kontrol (tanpa penambahan *V. harveyi* maupun isolat probiotik). Selama percobaan, pasca larva udang diberi pakan *Artemia* sebanyak 3-5 individu/mL dengan frekuensi 4 kali sehari. Ganti air dan penyiponan dilakukan setiap hari sebanyak 10% dari volume total wadah pemeliharaan. Pengamatan dilakukan selama 5 hari, dan pada akhir percobaan dihitung sintasan dan pertumbuhan pasca larva udang. Sintasan pasca larva udang dihitung menggunakan rumus Effendie (1979):

$$SR = \frac{N_t}{N_o} \times 100 \%$$

di mana:

SR : Tingkat sintasan/*Survival rate* (%)

N_t : Jumlah udang yang hidup pada akhir perlakuan (ekor)/*Number of survived shrimps (ind.)*

N_o : Jumlah udang yang hidup pada awal perlakuan (ekor)/*Number of shrimps at the beginning of the experiment (ind.)*

Pertumbuhan larva udang dihitung berdasarkan pertambahan bobot dan panjang, dengan rumus Huisman (1987):

$$\alpha = \left\{ \left[\sqrt{\frac{W_t}{W_o}} - 1 \right] \times 100\% \right\} \text{ dan } \alpha = \left\{ \left[\sqrt{\frac{L_t}{L_o}} - 1 \right] \times 100\% \right\}$$

di mana:

α : Laju pertumbuhan panjang atau bobot udang *Specific length and weight growth rates* (%)

t : Lama waktu pemeliharaan udang (hari) *Period of culture (day)*

W_t : Bobot rata-rata akhir udang/*Average shrimp final body weight* (mg)

W_o : Bobot rata-rata awal udang/*Average shrimp initial body weight* (mg)

L_t : Panjang rata-rata akhir udang/*Average final body length* (mm)

L_o : Panjang rata-rata awal udang/*Average initial body length* (mm)

HASIL DAN BAHASAN

Isolat Bakteri Kandidat Probiotik

Bakteri kandidat probiotik yang berhasil diisolasi dari 34 sumber yang berbeda di lingkungan tambak dan hatcheri ada 118 isolat. Dari 118 isolat tersebut, 22 isolat berasal dari

tambak pembesaran udang vaname di Desa Pinang Gading, Kalianda, Lampung Selatan, 57 isolat dari lingkungan pembenihan udang PT Biru Laut Khatulistiwa, Lampung Selatan, dan 39 isolat dari Balai Pengembangan Benih Ikan Laut Payau dan Udang (BPBILAPU) Pangandaran, Jawa Barat.

Penampilan koloni isolat-isolat tersebut pada media SWC-agar ada beberapa macam. Warna koloni terdiri dari krem, kuning, oranye, dan putih dengan bentuk koloni oval, bulat kecil, bulat besar, dan beberapa menyebar (*swarming*). Beberapa koloni bakteri dari golongan *Vibrio* menampilkan warna kuning dan hijau pada media selektif *Vibrio Thiosulphate Citrate Bile-Salt Sucrose* (TCBS-agar, Oxoid).

Hasil Uji *In Vitro* Bakteri Kandidat Probiotik

Hasil penapisan *in vitro* terhadap 118 isolat bakteri kandidat probiotik dalam menghambat pertumbuhan *V. harveyi* 5339, diperoleh 62 isolat atau sebanyak 52,54% yang menghasilkan zona hambat. Berdasarkan diameter zona hambat, golongan bakteri (*Vibrio* dan non-*Vibrio*), serta asal bakteri dipilih 3 isolat yaitu isolat 9a yang berasal dari alga *Cyclotella* dengan zona hambat 12,8 mm; isolat U_a yang berasal dari saluran pencernaan udang vaname dengan zona hambat 14,5 mm; dan isolat P₁₇B₆ yang berasal dari air pemeliharaan kerapu bebek dengan zona hambat 15,0 mm. Isolat A₇ dengan zona hambat 14,6 mm dan A₄ dengan zona hambat 16,5 mm tidak dipilih karena kedua isolat tersebut merupakan jenis *Vibrio* dengan koloni hijau pada media TCBS (sebagaimana *V. harveyi*), sehingga dikhawatirkan bersifat patogen terhadap udang. Beberapa jenis *Vibrio* dengan koloni warna hijau seperti *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus*, *V. Anguillarum*, dan *V. vulnificus* telah diketahui bersifat patogen terhadap ikan atau udang.

Muliani *et al.* (2003) mengisolasi sedikitnya 603 isolat bakteri asal laut dan 15 diantaranya (2,5%) potensial menghambat *V. harveyi* MR5339. Haryanti *et al.* (2000) juga telah mengisolasi 273 isolat bakteri dan 3 di antaranya (1%) menunjukkan adanya hambatan terhadap pertumbuhan *V. harveyi* secara *in vitro*. Hasil penelitian Riquelme *et al.* (1997) menunjukkan bahwa dari 57 isolat bakteri yang diisolasi dari air laut, 3 di antaranya (5%) potensial menghambat pertumbuhan *V.*

anguillarum. Adanya penghambatan pertumbuhan bakteri tidak selalu dapat diamati dengan melihat adanya zona bening pada media padat. Komposisi media yang digunakan mungkin mempengaruhi jumlah senyawa antimikrob yang dihasilkan atau dilepaskan ke media. Selain itu, penghambatan pertumbuhan tidak selalu berkaitan dengan produksi senyawa antimikrob seperti antibiotik, tetapi dapat juga karena adanya senyawa metabolit primer atau adanya perubahan pH (Verschuere *et al.*, 2000). Isolat SV1 yang tidak memperlihatkan adanya zona penghambatan pada uji *in vitro* ternyata dapat meningkatkan sintasan kekerangan pada uji *in vivo* (Riquelme *et al.*, 1997).

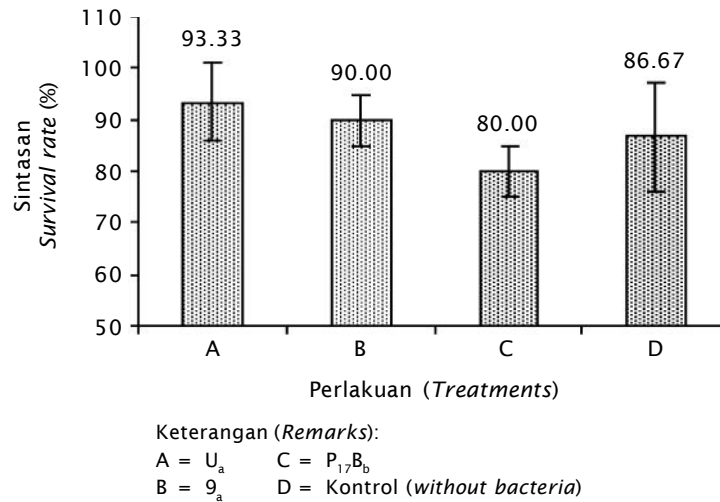
Patogenisitas Bakteri Kandidat Probiotik

Sebelum dilakukan ujiantang dengan *V. harveyi* MR5339 pada larva udang, 3 isolat terbaik berdasarkan uji *in vitro* diuji patogenisitasnya terhadap pasca larva udang windu. Dari hasil uji patogenisitas terlihat bahwa nilai sintasan pada perlakuan dengan penambahan bakteri kandidat probiotik tidak berbeda nyata dengan kontrol (Gambar 1), artinya semua kandidat probiotik yang diuji tidak bersifat patogen terhadap pasca larva udang windu.

Uji Tantang Bakteri Kandidat Probiotik dengan *V. harveyi* MR5339 pada Larva Udang Windu

Tiga isolat bakteri kandidat probiotik yang paling potensial berdasarkan uji *in vitro*, diuji efektivitasnya dalam menghambat serangan *V. harveyi* MR5339 pada pasca larva udang windu. Hasil pengujian menunjukkan bahwa isolat U_a dan 9a secara nyata ($P < 0,05$) dapat meningkatkan sintasan pasca larva udang (Gambar 2). Nilai sintasan pasca larva udang pada perlakuan yang selain diinfeksi *V. harveyi* MR5339 juga ditambahkan isolat U_a dan 9a adalah masing-masing 88,33%; berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan kontrol positif (hanya diinfeksi *V. harveyi* MR5339) yang hanya mencapai 65%.

Peningkatan nilai sintasan larva tersebut diduga karena adanya penghambatan pertumbuhan *V. harveyi* pada larva udang oleh bakteri probiotik. Hal ini dapat diketahui dari pengamatan populasi *Vibrio* pada media pemeliharaan dan kematian larva yang umumnya pada perlakuan dengan penambahan



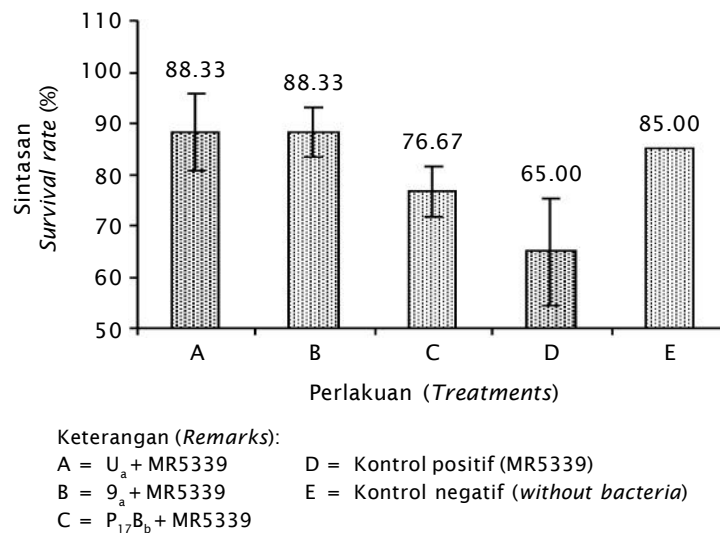
Gambar 1. Sintasan larva udang windu pada uji patogenisitas bakteri kandidat probiotik

Figure 1. Survival rate of tiger shrimp larva after pathogenicity test using probiotic bacteria candidates

probiotik lebih rendah dibanding kontrol positif (Gambar 3 dan 4).

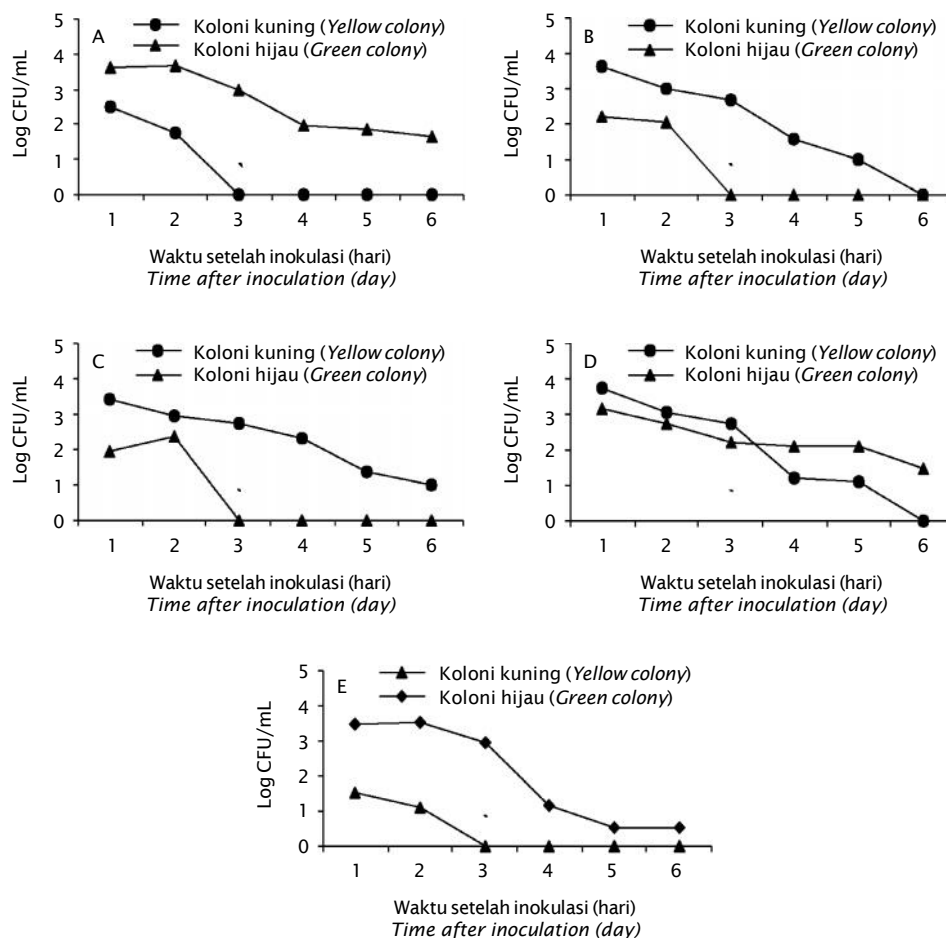
Hasil penelitian Rengpipat *et al.* (1998b) menggunakan probiotik *Bacillus* S11 menunjukkan bahwa setelah diberi perlakuan

probiotik selama 100 hari dan kemudian diuji tantang dengan *V. harveyi* selama 10 hari, nilai sintasan udang windu mencapai 100% sedangkan pada kontrol 26%. Haryanti *et al.* (2000) melaporkan bahwa penambahan bakteri



Gambar 2. Sintasan larva udang windu pada uji tantang bakteri kandidat probiotik dengan *V. harveyi* MR5339

Figure 2. Survival rate of tiger shrimp larva after challenge test to *V. harveyi* MR5339 with probiotic bacteria candidates



Keterangan (Remarks):

- A = U_a + MR5339 D = Kontrol positif (MR5339)
 B = 9_a + MR5339 E = Kontrol negatif (without bacteria)
 C = P₁₇B₀ + MR5339

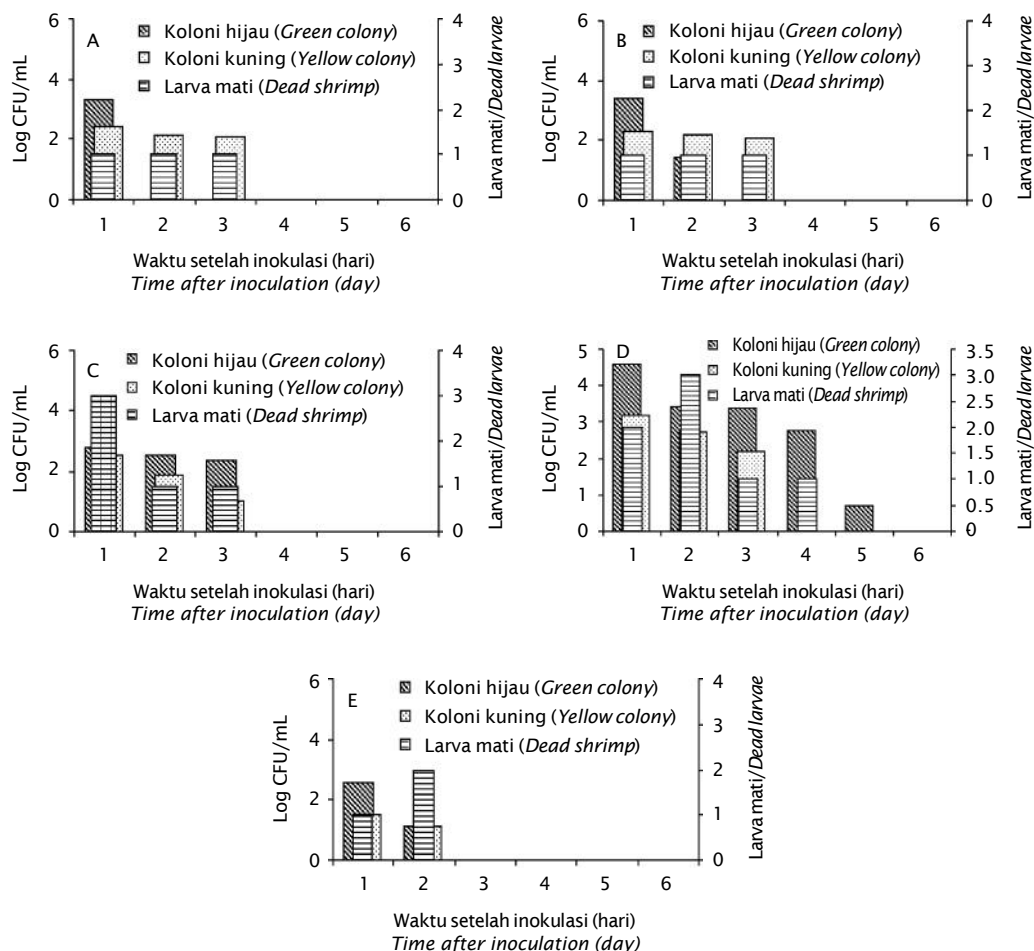
Gambar 3. Jumlah sel *Vibrio* pada air media pemeliharaan larva udang selama uji tantang bakteri kandidat probiotik dengan *V. harveyi* MR5339

Figure 3. Number of *Vibrio* cells in rearing media of tiger shrimp larva during challenge test to *V. harveyi* MR5339 with probiotic bacteria candidates

strain By-9 dengan konsentrasi 10^6 CFU/mL pada media pemeliharaan larva udang windu menghasilkan tingkat sintasan 59,3%; sedangkan pada kontrol 14,7%. Riquelme *et al.* (1997) juga melaporkan bahwa penambahan bakteri strain C30 dan SV1 pada media pemeliharaan larva kerang (*Argopecten purpuratus*) secara nyata dapat meningkatkan sintasan larva tersebut walaupun tidak berpengaruh setelah diuji tantang dengan *V.*

anguillarum. Dalam uji *in vitro* sebelumnya, isolat C30 diketahui dapat menghambat pertumbuhan *V. anguillarum* patogen, sedangkan SV1 tidak menunjukkan adanya penghambatan.

Laju pertumbuhan panjang larva udang windu pada perlakuan dengan penambahan probiotik berkisar antara 3,80-4,83%; tidak berbeda nyata dengan kontrol positif 3,34% dan kontrol negatif 4,66% (Gambar 5). Demikian



Keterangan (Remarks):

A = U_a + MR5339

B = 9_a + MR5339

C = $P_{17}B_b$ + MR5339

D = Kontrol positif (MR5339)

E = Kontrol negatif (without bacteria)

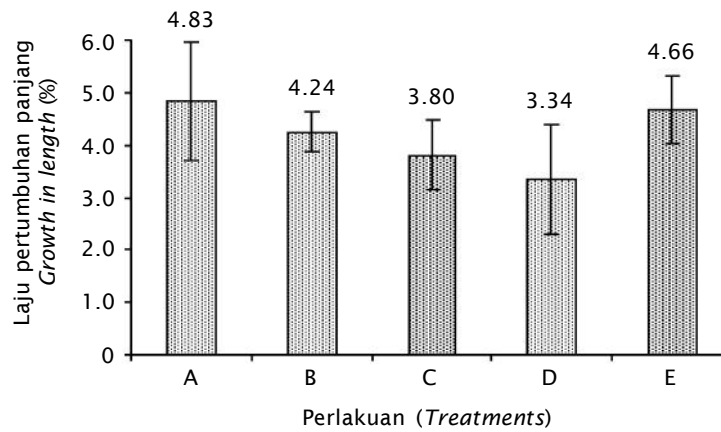
Gambar 4. Jumlah sel *Vibrio* pada larva udang mati selama ujiantang bakteri kandidat probiotik dengan *V. harveyi* MR5339

Figure 4. Number of *Vibrio* cells in dead tiger shrimp larva during challenge test to *V. harveyi* MR5339 with probiotic bacteria candidates

juga pada laju pertumbuhan bobot, pada perlakuan dengan penambahan probiotik laju pertumbuhan bobotnya berkisar antara 16,59%-18,62% tidak berbeda nyata dengan kontrol positif 14,81% dan kontrol negatif 17,08% (Gambar 6). Hal ini menunjukkan bahwa probiotik yang diberikan mampu menghambat pertumbuhan *V. harveyi* sehingga dapat meningkatkan sintasan larva udang, namun belum dapat meningkatkan pertumbuhannya.

Kualitas Air

Pengukuran kualitas air dilakukan pada awal dan akhir penelitian dan hasilnya disajikan pada Tabel 1. Suhu air dari awal hingga akhir pemeliharaan larva udang berkisar antara 28,5°C-29,5°C. Suhu air pemeliharaan cenderung stabil selama penelitian, karena pada wadah pemeliharaan dilengkapi dengan *heater* yang diatur pada suhu 29°C, dan fiber

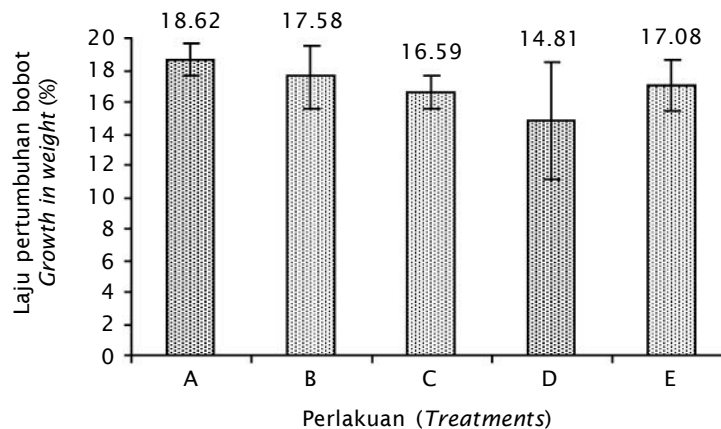


Keterangan (Remarks):

A = U_a + MR5339 D = Kontrol positif (MR5339)
 B = 9_a + MR5339 E = Kontrol negatif (without bacteria)
 C = $P_{17}B_b$ + MR5339

Gambar 5. Laju pertumbuhan panjang larva udang windu pada ujiantang bakteri kandidat probiotik dengan *V. harveyi* MR5339

Figure 5. Length growth rate of tiger shrimp larva after challenge test to *V. harveyi* MR5339 with probiotic bacteria candidates



Keterangan (Remarks):

A = U_a + MR5339 D = Kontrol positif (MR5339)
 B = 9_a + MR5339 E = Kontrol negatif (without bacteria)
 C = $P_{17}B_b$ + MR5339

Gambar 6. Laju pertumbuhan bobot larva udang windu pada ujiantang bakteri kandidat probiotik dengan *V. harveyi* MR5339

Figure 6. Weight growth rate of tiger shrimp larva after challenge test to *V. harveyi* MR5339 with probiotic bacteria candidates

Tabel 1. Parameter kualitas air media pemeliharaan udang selama penelitian

Table 1. Variation of water quality parameters during the experiment

Perlakuan <i>Treatments</i>	Suhu <i>Temperature</i> (°C)	DO (mg/L)	pH	Salinitas <i>Salinity</i> (ppt)	NO ₂ (mg/L)	NH ₃ (mg/L)
A	28.5-29.5	6.28-6.31	7.99-8.04	28-35	0.62-2.42	0.060-0.073
B	28.5-29.5	6.15-6.40	8.01-8.09	28-35	0.47-2.51	0.084-0.098
C	28.5-29.5	6.07-6.31	8.05-8.10	28-35	0.63-2.53	0.052-0.106
D	28.5-29.5	6.08-6.94	7.99-8.08	28-35	0.15-2.51	0.052-0.090
E	28.5-29.5	6.17-6.22	8.02-8.03	28-35	0.39-2.49	0.081-0.090

Keterangan (*Remarks*):A = U_a + MR5339 D = Kontrol positif (MR5339)B = 9_a + MR5339 E = Kontrol negatif (*without bacteria*)C = P₁₇B_b + MR5339

ditutup dengan plastik hitam, sehingga suhu pada pagi dan malam hari relatif stabil.

Salinitas air pemeliharaan pada awal penelitian untuk seluruh perlakuan adalah 28 ppt, sedangkan pada akhir penelitian adalah 35 ppt. Menurut Boyd (1990), larva udang sebaiknya dipelihara dalam air yang bersalinitas 28-35 ppt. Salinitas dapat mempengaruhi pertumbuhan karena terkait dengan osmoregulasi. Jika salinitas terlalu rendah atau terlalu tinggi akan menyebabkan banyak energi terpakai untuk osmoregulasi.

Nilai pH pada awal penelitian berkisar antara 7,99-8,09; dan pada akhir penelitian berkisar antara 7,89-8,08. Nilai pH pada semua perlakuan masih berada pada kisaran pH optimal, yaitu 7,5-8,5 (Poernomo, 1988). Nilai pH yang tinggi dapat meningkatkan kadar NH₃ yang secara tidak langsung membahayakan kehidupan udang.

Oksigen terlarut (DO) pada awal penelitian berkisar antara 6,22-6,94 mg/L, dan pada akhir penelitian berkisar antara 6,05-6,38 mg/L. Nilai DO selama penelitian cukup baik untuk pemeliharaan larva udang windu. Pada saat oksigen terlarut <2 mg/L, udang akan mengalami stress dan akan mengalami kematian apabila diekspose pada perairan dengan kandungan oksigen terlarut <1 mg/L selama beberapa jam (Boyd, 1982).

Nitrit (NO₂) pada awal penelitian berkisar antara 0,152-1,366 mg/L, sedangkan pada akhir penelitian berkisar antara 2,08-2,53 mg/L. Kadar nitrit yang aman bagi pertumbuhan udang sebaiknya tidak lebih dari 4,5 mg/L.

Konsentrasi nitrit yang mematikan 50% populasi udang windu (LC₅₀) adalah 45 mg/L dalam waktu 96 jam (Boyd, 1990).

Amonia (NH₃) pada awal penelitian berkisar antara 0,052-0,084 mg/L, sedangkan pada akhir penelitian berkisar antara 0,060-0,107 mg/L. Peningkatan kandungan amonia pada akhir penelitian dibandingkan kandungan amonia pada awal penelitian disebabkan adanya sisa metabolisme dan bahan organik tersuspensi. Namun, kandungan amonia pada semua perlakuan selama penelitian masih berada di bawah 0,4 mg/L; yang menurut Boyd (1982), merupakan batas kritis penyebab kematian bagi udang.

KESIMPULAN

Isolat U_a dan 9_a yang masing-masing diisolasi dari saluran pencernaan udang vaname dan *Cyclotella* efektif menghambat pertumbuhan *V. harveyi* serta secara signifikan dapat meningkatkan sintasan larva udang windu. Nilai sintasan larva udang pada perlakuan yang selain diinfeksi *V. harveyi* MR5339 juga ditambahkan isolat U_a dan 9_a adalah 88,3%; berbeda nyata dengan kontrol positif yang hanya diinfeksi *V. harveyi* MR5339 (65%).

DAFTAR ACUAN

- Alabi, A.O., Jones, D.A., & Latchford, J.W. 1999. The efficacy of immersion as opposed to oral vaccination of *Penaeus indicus* larvae against *Vibrio harveyi*. *Aquaculture*, 179: 1-11.

- Boyd, C.E. 1982. Water Quality Management for Pond Fish Culture. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, the Netherlands, 318 pp.
- Boyd, C.E. 1990. Water Quality in Pond for Aquaculture. Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University, Alabama, Birmingham Publishing Co USA, 482 pp.
- Douillet, P.A. & Langdon, C.J. 1994. Use of a probiotics for the culture of larvae of the Pacific Oyster (*Crassostrea gigas* Thunberg). *Aquaculture*, 119: 25-40.
- Effendie, M.I. 1979. Metode Biologi Perikanan. Yayasan Dewi Sri. Bogor, 105 hlm.
- Fuller, R. 1992. History and Development of Probiotics. Di dalam: Fuller R, editor. Probiotics the Scientific Basis. London: Chapman and Hall, p. 1-8.
- Gomez-Gil, B, Roque, A., & Tumbull, J.F. 2000. The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms. *Aquaculture*, 191: 259-270.
- Gram, L., Melchiorson, J., Spanggaard, B., Huber, I., & Nielsen, T.F. 1999. Inhibition of *Vibrio anguillarum* by *Pseudomonas fluorescens* AH2, a possible probiotic treatment of fish. *Appl Environ Microbiol.*, 65: 969-973.
- Huisman, E.A. 1987. Principles of Fish Production. Department of Fish Culture and Fisheries. Wageningen Agricultural University. Netherlands, 170 pp.
- Haryanti, Sugama, K., Tsumura, S., & Nishijima, T. 2000. Potentiality of bacteria isolated from seawater as biological control agent for vibriosis in black tiger shrimp *Penaeus monodon* larvae. *Dalam: Hardjito, L. (Ed.). Proceedings of International Symposium on Marine Biotechnology (ISMB 2000)*. Center for Coastal and Marine Resources Studies, IPB, Bogor, Indonesia, p. 182-189.
- Karunasagar, I., Pai, R., Malathi, G.R., & Karunasagar, I. 1994. Mass mortality of *Penaeus monodon* larvae due to antibiotic-resistant *Vibrio harveyi* infection. *Aquaculture*, 128: 203-209.
- Lavilla-Pitogo, C.R., Baticados, M.C.L., Cruz-Lacierda, E.R., & De la Pena, L.D. 1990. Occurrence of luminous bacterial diseases of *Penaeus monodon* larvae in the Philipines. *Aquaculture*, 91: 1-13.
- Muliani, Suwanto, A., & Hala, Y. 2003. Isolasi dan karakterisasi bakteri asal laut Sulawesi untuk biokontrol penyakit vibriosis pada larva udang windu (*Penaeus monodon* Fab.). *Hayati*, 10: 6-11.
- Ohhira, I., Tamura, T., Fujii, N., Inagaki, K., & Tanaka, H. 1996. Antimicrobial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the culture broth of *Enterococcus faecalis* TH10, an isolate from Malaysian fermentation food, Temph. *Japanese J Dairy and Food Sci.*, 45: 93-96.
- Poernomo, A. 1988. Faktor lingkungan dominan pada budidaya udang intensif. Hlm. 27-39. Panitia Seminar Usaha Budidaya Udang Tambak di Jawa Timur. Surabaya, 62 hlm.
- Rengpipat, S.S., Rukpratanporn, S., Piyatiratitivorakul, S., & Menaveta, P. 1998a. Probiotic in aquaculture: a case study of probiotics for larvae of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). In: Flegel, T.W. (Ed.). *Advances in Shrimp Biotechnology. Proceedings to the special session on shrimp biotechnology, 5th Asian Fisheries Forum*; Chiangmai, Thailand. Bangkok: National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, p. 176-181.
- Rengpipat, S.S., Rukpratanporn, S., Piyatiratitivorakul, S., & Menaveta, P. 1998b. Effects of a probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth. *Aquaculture*, 167: 301-313.
- Rengpipat, S.S., Rukpratanporn, S., Piyatiratitivorakul, S., & Menaveta, P. 2000. Immunity enhancement in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) by a probiont bacterium (*Bacillus* S11). *Aquaculture*, 191: 271-288.
- Riquelme C *et al.* 1997. Potential probiotic strains in the culture of the Chilean scallop *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819). *Aquaculture*, 154: 17-26.
- Ruangpan, L. 1998. Luminous bacteria associated with shrimp mortality. Di dalam: Flegel T.W. (Ed.). *Advances in Shrimp Biotechnology. Proceedings to the special session on shrimp biotechnology, 5th Asian Fisheries Forum*; Chiangmai, Thailand. Bangkok: National Center for Genetic Engineering and Biotechnology. p. 205-211.
- Skjermo, J. & Vadstein, O. 1999. Techniques for microbial control in the intensive rearing of marine larvae. *Aquaculture*, 177: 333-343.
- Suwanto, A., Yuhana, M., Herawaty, E., & Angka, S.L. 1998. Genetic diversity of luminous *Vibrio* isolated from shrimp larvae. Di dalam: Flegel T.W. (Ed.). *Advances in Shrimp Biotechnology. Proceedings to the special session on shrimp biotechnology, 5th Asian*

- Fisheries Forum*; Chiangmai, Thailand. Bangkok: National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, p. 217-224.
- Teo, J.W.P., Suwanto, A., Poh, C.L. 2000. Novel β -lactamase genes from two environmental isolates of *Vibrio harveyi*. *Antimicrob Agents Chemother*, 44: 1,309-1,314.
- Tjahjadi, M.R., Angka, S.L., & Suwanto, A. 1994. Isolation and evaluation of marine bacteria for biocontrol of luminous bacterial diseases in tiger shrimp larvae (*Penaeus monodon* Fab.). *Aspac J Mol Biol Biotechnol*, 2: 234-352.
- Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., & Verstraete, W. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiol Mol Biol Rev.*, 64: 655-671.